



TITLE:

A model of liver carcinogenesis originating from hepatic progenitor cells with accumulation of genetic alterations( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kim, Soo Ki

---

CITATION:

Kim, Soo Ki. A model of liver carcinogenesis originating from hepatic progenitor cells with accumulation of genetic alterations. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18891>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	金 秀基
論文題目	A model of liver carcinogenesis originating from hepatic progenitor cells with accumulation of genetic alterations (肝幹/前駆細胞を起源とする肝発癌モデルマウスの確立)		
(論文内容の要旨)			
<p><b>＜背景＞</b>近年の幹細胞研究の進展にともない、肝臓においても増殖能と多分化能を持つ肝組織幹細胞/前駆細胞が存在することが示唆され、その挙動への理解が進んできた。興味深いことに、肝幹細胞/前駆細胞が肝腫瘍の発生起源となっている可能性が、様々なモデルマウスで示されるようになった。しかし、そのほとんどが特定の遺伝子を過剰発現、あるいはノックアウトすることにより肝腫瘍を誘導するモデルであり、多段階的に遺伝子異常が蓄積される結果、腫瘍が発生するというヒト肝発癌プロセスを模倣したモデルは確立されてない。</p> <p>遺伝子編集酵素 AID(activation-induced cytidine deaminase)は、慢性炎症を伴った消化器系臓器に発現し多段階にゲノム異常を誘導することにより上皮細胞の腫瘍化を惹起するという役割を果たしている。そこで、この AID の遺伝子変異導入作用に着目し、ヒト発癌過程を模倣した肝幹/前駆細胞からの肝発癌モデルを構築し、その表現型の解析を通じて肝癌の発生起源としての肝幹/前駆細胞の役割を検討することを本研究の目的とした。</p> <p><b>＜方法＞</b>AID を全身に発現する AID トランスジェニックマウス(Tg)胎生 13.5 日の胎仔肝組織から肝幹/前駆細胞を分離・精製し、得られた細胞分画をレシピエントマウスに経脾的に移植し、肝臓に生着させた。コントロールとして、野生型マウスの胎仔肝を用いて同様の細胞移植を行った。その後、細胞移植を受けたレシピエントマウスを長期間観察し、移植した細胞の生着、肝腫瘍の発生の有無の検討を行うとともに、レシピエントマウス肝組織に発生した腫瘍に生じたゲノム異常の包括的な解析を行った。</p> <p><b>＜結果＞</b> AID Tg マウス胎仔肝由来の肝幹/前駆細胞をレシピエントマウスに移植し、平均 90 週経過観察したところ、レシピエントマウス 11 匹中 7 匹に肝腫瘍が発生した。その一方で、野生型マウスの胎仔肝から採取した肝幹/前駆細胞を移植したレシピエントマウスの肝臓では、腫瘍形成を全く認めなかった。リアルタイム PCR およびサザンブロット法による解析から、AID Tg マウス由来の細胞移植を受けたレシピエントマウスに発生した肝腫瘍は、移植した肝幹/前駆細胞に由来していることが明らかとなった。また、病理組織学的な検討からは、発生した肝腫瘍の中には、肝細胞癌と胆管細胞癌の両方の組織学的特徴を持つ腫瘍が存在することが分かり、肝幹/前駆細胞は、肝細胞癌・胆管細胞癌いずれの腫瘍の発生起源にもなりうる可能性が示された。</p> <p>次に、発癌過程で肝幹/前駆細胞に生じたゲノム異常を明らかにする目的で、レシピエント肝組織に発生した肝癌細胞と、その起源となった肝前駆細胞の全エクソン塩基配列を決定し、両者の比較を行った。2 個体の肝癌についての解析を行った結果、</p>			

肝癌#1 では 23 個、肝癌#2 では 162 個の遺伝子変異が検出された。興味深いことに、これらの遺伝子変異の約 8 割がヒト肝癌でも報告されていることが、ヒト肝癌ゲノムデータベース(ICGC)との照合により確認された。また、バイオインフォマティクスデータベースである KEGG を用いた解析から、MAPK シグナル経路や代謝経路など、生体内で重要な役割を果たす多数のシグナル伝達経路に関わった遺伝子に変異が生じていることが分かった。

＜結論＞多段階的にゲノム異常を導入する AID の特性を生かして、肝幹/前駆細胞に遺伝子変異を蓄積することにより腫瘍発生に至る肝発癌モデルを確立した。本研究により、肝幹/前駆細胞にゲノム異常が生成・蓄積することが肝癌の発生起源になるという可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

近年、肝幹細胞/前駆細胞が肝腫瘍の発生起源となっている可能性が、様々なモデルマウスで示されてきた。しかし、そのほとんどが特定の遺伝子を過剰発現、又はノックアウトすることにより発癌を誘導するモデルであり、多段階的にゲノム異常が蓄積される結果、腫瘍が発生するというヒト肝発癌過程を模倣したモデルは確立されてない。

申請者は、ゲノム異常を導入する遺伝子編集酵素としての Activation-induced cytidine deaminase (AID)の特性を生かして、肝幹/前駆細胞に遺伝子変異を生成・蓄積することにより腫瘍発生に至る肝発癌モデルを樹立した。AID トランスジェニックマウスの胎仔肝から肝幹/前駆細胞を分離・精製後、レシピエントマウスに移植し、平均 90 週後にその表現型を検討したところ、11 匹中 7 匹(63.6%)で肝腫瘍の形成が確認された。そこで、発生した 2 個の肝癌組織とその由来となった肝幹/前駆細胞の全エクソン配列の比較を行ったところ、肝癌#1 では 23 個、肝癌#2 では 162 個の遺伝子変異が検出された。これらの変異遺伝子には、代謝や細胞接着関連のシグナル伝達経路に関わるものが含まれていた。以上より、肝幹/前駆細胞にゲノム異常が蓄積することが肝癌の発生起源になるという可能性が示唆された。

以上の研究は肝癌発生過程における遺伝子異常の解明に貢献し、肝発癌機構の研究の進展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。  
なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 3 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。